



## İŞINLANMIŞ BILDIRCIN ETİNİN DNA KOMET ANALİZ YÖNTEMİ İLE DEDEKSİYONU

Yakup Erel, Nizamettin Yazıcı, Sümer Özvatan\*, Demet Erçin

Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, Sarayköy Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi,  
Saray Mah., Atom Cad., No:27, 06983 Kazan / Ankara

Bu çalışmada ışınlanmış bildircin et örneklerindeki DNA kometleri basit ve hızlı bir yöntem olan tek hücre mikrojel elektroforezi yöntemi (DNA Komet Analiz Yöntemi) kullanılarak dedekte edilmiştir. TS EN 13784'e göre uygulanan yöntem ile elde edilen kometlerin fotomikrografik analizleri yapılmıştır. Bildircin et örnekleri 1.05, 2.00 ve 4.00 kGy dozlarda gama kaynağı ile (Gammacell <sup>60</sup>Co, doz hızı 1.31 kGy/saat) ışınlanmıştır. Işınlanan örnekler enzimatik bozulmanın engellenmesi amacıyla deneysel çalışma yapılana kadar polietilen poşetlerde ağzı kapalı olarak ve buzdolabında (4 °C) muhafaza edilmiştir. Soğuk FTT (fosfatla tamponlanmış tuz çözeltisi) içinde bildircinlerin göğüs etlerinden hazırlanan deney örneklerinden izole edilen hücreler için ışınlamadan 1, 4, 8 ve 11 gün sonra DNA Komet Analiz deneyleri yapılmıştır. İzole edilen hücreler 2, 5 ve 9 dakika sürelerle % 2.5'lik SDS (sodyum dodesil sülfat) çözeltisi içinde, 2 V/cm akım uygulanarak 2 dakika süre ile liziz işlemine tâbi tutulmuşlardır. Liziz işleminden sonra mikroskop camları propidyum iyodür ile boyanmış ve mikroskop altında (DIC -*differential interference contrast*- ataçmanlı Olympus BX 51 model floresans mikroskop) incelenmişlerdir. Işınlanmış örneklerin tamamında parçalanmış DNA'ların hücreden dışarıya doğru bir komet (kuyruklu yıldız) görüntüsü vererek yayıldığı gözlenmiştir. Bu kometlerin kuyruk kısımlarının artan ışınlama dozu ile uzadığı ve genişlediği tespit edilmiştir. Bununla birlikte ışınlanmamış örneklerin DNA'larının sağlam kaldığı, hücreden DNA göçmelerinin ya çok az gözlendiği ya da hiç gözlenmediği belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Bildircin Eti, Işınlama, Fotomikrografik Analiz, DNA Komet, TS EN 13784.

### DETECTION OF IRRADIATED QUAIL MEAT BY DNA COMET ASSAY

A simple and fast technique of microgel electrophoresis of single cells (DNA Comet Assay) was used to detect DNA comets in irradiated quail meat samples. Quail meat samples were exposed to radiation doses of 1.05, 2.00 and 4.00 kGy in gamma cell (Gammacell <sup>60</sup>Co, dose rate 1.31 kGy/h) covering the permissible limits for enzymatic decay and stored at 4 °C. The cells isolated from muscle (chest, thorax) in cold PBS were analysed using the DNA comet assay on 1, 4, 8 and 11 day post irradiation. The cells were lysed between 2, 5 and 9 min in 2.5% SDS and electrophoresis was carried out at a voltage of 2 V/cm for 2 min. and then propidium iodide staining was employed to visualize DNA. After propidium iodide staining, the slides were evaluated through a fluorescent microscope (Olympus BX 51 model with fluorescence and DIC attachments). In all irradiated samples, fragmented DNA stretched towards the anode and damaged cells appeared as a comet. The density of DNA in the tails increased with increasing radiation dose. However, in non-irradiated samples, the large molecules of DNA remained relatively intact and there was only minor or no migration of DNA; the cells were round or had very short tails only.

**Keywords:** Quail Meat, Irradiation, Photomicrographic Analysis, DNA Comet, TS EN 13784.

\* sumer@taek.gov.tr

## 1. GİRİŞ

Et ürünleri, deniz ürünleri ve kümes hayvanlarının ışınlanması dünyada giderek önem kazanmaktadır [1,2,3]. Bu yöntem gıdalarda *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* O157:H7, *Clostridium* gibi patojenlerin ve *Toxoplasma gondii* gibi parazitlerin tamamen yok edilmesinde veya olumsuz etkilerinin azaltılmasında etkilidir [4-9]. Et ve et ürünlerinin mikrobiyolojik güvenliğini düzenleyici kurumlar, tüketiciler, araştırmacılar, endüstri ve medya giderek artan bir ilgi göstermektedir [2,10-12]. Işınlama işlemi gıdaların korunması amacıyla önemli bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Bu işlemin amacı ham gıdalarda doğal olarak bulunabilen bazı özel patojenlerin ve mikroorganizmaların kısmen veya tamamen zararsız hâle getirilmesidir [11].

Işınlanmış gıdaların analitiksel dedeksiyonu daha önce ışınlanmış gıdaların tekrar ışınlanmasını engellemek bakımından önemlidir [13]. Işınlanmış gıdaların farklı yöntemlerle dedeksiyonunu içeren on adet uluslararası standart Avrupa Standardizasyon Komitesi (European Committee for Standardization ; CEN) tarafından benimsenmiştir ve şu anda uygulanmaktadır [14].

Bu yöntemlerden biri olan DNA Komet Analiz Yöntemi prensipte, DNA içeren tüm gıdaların ışınlanıp ışınlanmadığının belirlenmesinde kullanılan basit, hızlı ve spesifik bir tarama tekniğidir [15]. Hayvansal veya bitkisel bir hücreye güç kaynağı ile elektrik akımı uygulandığında DNA anot yönünde bir kuyruk oluşturmak suretiyle hücreden dışarıya göç eder ve ışınlanmış hücreler bu şekilde uzayarak bir "kuyruklu yıldız" (komet) görüntüsü verirler [14].

Artan ışınlama dozu ile daha fazla sayıda DNA parçalanması oluşur ve bu parçalar elektroforez işlemi sırasında hücreden geçerler. Bu nedenle, ışınlanmış hücrelerde çekirdekten anoda doğru ışınlama dozuna bağlı olarak artan miktarda uzamalar gösterirken, ışınlanmamış hücreler dairesel şekillerini korurlar veya çok az bir kuyruk oluşumu gösterirler [14-16].

Bu yöntemin popüler olmasının temel nedenleri; hassaslığı, diğer yöntemlere göre ucuz ve kolay yapılabilir olmasıdır. Elde edilen kometleri görebilmek için etidyum bromür, akrinin oranj, propidyum iyodür gibi floresan boyalar kullanılır. Bu boyaların kullanılması ve yöntemin diğer basamakları uygulama bakımından zor değildir fakat son aşamada kullanılan floresan mikroskopun kullanılması için yetişmiş personel olması gerekir [17]. Bu yöntemde boyama işlemi sırasında gümüş boyama yapılması da kullanılmaktadır [18]. Komet şekillerinin biçimsel olarak tip 1'den tip 5'e kadar sınıflandırılması yapılmıştır [14].

Literatürde ışınlanmış pek çok gıda türü için DNA Komet Analiz Yöntemi ile yapılmış çalışmalara rastlanırken, bildircin eti ile yapılmış çalışmalar hakkında sınırlı bilgi vardır. Bu çalışmada TS EN 13784'e göre [19] DNA Komet Analiz Yöntemi kullanılarak ışınlanmış ve ışınlanmamış bildircin et örneklerinden elde edilen DNA'lardaki biçimsel farklılıklar ve bu verilerden hareket ederek bu ürünlerin saklama şartları ve süreleri için bir fikir geliştirilmeye çalışılmıştır.

## 2. DENEYSEL

### 2.1. Örnekler

Ankara'daki bir akvaryumcudan satın alınan canlı bildircin laboratuvarında kesilmiş ve bildircin et örnekleri 5.0 g'lık göğüs et parçaları hâlinde polietilen ambalajlara koyulmuştur. Her bir ambalaja ışınlama dozunu belirten etiketler yapıştırılmıştır.

### 2.2. Işınlama

Bıldircin et örnekleri Sarayköy Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi'nde bulunan gama kaynağında (Gammacell <sup>60</sup>Co, doz hızı 1.31 kGy/saat) farklı dozlarda (1.05, 2.00 ve 4.00 kGy) ışınlanmıştır. Işınlama sonrasında hangi örneğin ne kadar net doz aldığının hesaplanabilmesi için Harwell Amber 3042 marka dozimetreler kullanılmıştır. Işınlama işleminden hemen sonra örnekler deneysel çalışma yapılacağı güne kadar buzdolabında (4 °C) saklanmıştır.

### 2.3. Hücre süspansiyonlarının hazırlanması

Her bir örnek için yaklaşık 1.0 g et bistürü kullanılarak ince tabakalar hâlinde kesilmiştir. Bu şekilde hazırlanan bıldircin et örnekleri küçük bir beher içinde 5 mL buzda soğutulmuş fosfatla tamponlanmış tuz çözeltisi (FTT) ile 500 rpm karıştırma hızında, 5 dakika süre ile muamele edilmiştir. Daha sonra süspansiyonlar sırası ile 500 µm ve 200 µm eleklerden geçirilmiş ve süzütümler buz içinde 5 dakika süre ile çökmeye bırakılmıştır. Üstteki sıvı sonraki aşamalarda kullanılmıştır. Bu şekilde hazırlanan süspansiyonlardan 100 µL alınarak 1 mL agoroz çözeltisi (0.8 % FTT) ile karıştırılmış, bu karışımdan 100 µL alınarak önceden agoroz çözeltisi ile kaplanmış olan mikroskop camlarına pipet kullanılarak aktarılmış ve cam üzerine yayılmıştır.

### 2.4. DNA komet analizi

Yukarıda açıklandığı gibi hazırlanan hücre süspansiyonlarına TS EN 13784'e uygun olarak DNA Komet Analizi uygulanmıştır [19]. Kaplanmış mikroskop camları liziz çözeltisi içinde (0.045 M TBE, pH 8.4, 2.5 % SDS) 10 dakika süre ile bekletildikten sonra elektroforez çözeltisi içinde 2 V/cm akım ve 2 dakika süre ile elektroforez yapılmışlardır. Mikroskop camlarının boyanmasında propidyum iyodür kullanılmıştır ve camlar floresan mikroskopu ile (DIC -*differential interference contrast*- ataçmanlı Olympus BX 51 model floresans mikroskop) incelenerek görüntü fotoğrafları alınmıştır.

## 3. DENEYSEL SONUÇLAR

Işınlanmamış (kontrol) ve ışınlanmış bıldircin et örnekleri Şekil 1-4. de görüldüğü gibi çıplak göz ile mikroskop altında yapılan gözlemlerde belirgin bir şekilde ayırt edilebilmektedirler. Komet hücreleri Marín-Huachaca tarafından tanımlandığı gibi biçimsel olarak sınıflandırılmışlardır [14]. Bu yöntemle göre kısa boylu kuyruk oluşturan hücreler nispeten az miktarda DNA parçalanması ile oluşmuşlardır ve bu tür kometler *tip 1* olarak sınıflandırılmışlardır. Diğer komet türleri; uzun kuyruklu olanlar *tip 2*, uzun kuyruklu ve kuyruğun son bölümü geniş olanlar *tip 3*, baş ve kuyruk kısmı birbirinden ayrılmış uzun kuyruklu olanlar *tip 4* ve baş kısmında hemen hemen hiç DNA kalmamış,

kuyruğun bir bulut görünümünde ve baş kısmından uzakta olduğu olanlar *tip 5* olarak sınıflandırılmışlardır.

#### 4. TARTIŞMA VE YORUM

Genel olarak ışınlanmamış örneklerin hücreleri/çekirdekleri küre veya yumurta şeklinde, sağlam ve/veya kafa boyunca kısa ve belirgin olmayan kuyruklar şeklinde görüntü vermişlerdir. Işınlanmış örneklerde sadece belirgin kometler gözlenmiştir. Herhangi bir ışınlanmış örnekte bütün hücreler hasar görmüş ve parçalanmıştır ve hiç sağlam hücre gözlenmemiştir.

Bıldırcın et örneklerinde yapılan mikroskop incelemelerinin sonuçları uygulanan radyasyon dozundaki artış ile doğru orantılı olarak komet uzunluğunun (DNA göçmesinin uzaklığı) arttığını göstermiştir (Şekil 1-4). Ayrıca ışınlama dozunun miktarının kometin şekli ile bağlantılı olduğu belirlenmiştir. Farklı ışınlama dozları için kometlerin şekil ve büyüklüklerine bağlı olarak kabaca doz tahmini yapmak mümkün olabilmektedir. Artan ışınlama dozu ile kuyruk kısmındaki % DNA artmakta buna karşılık kafa kısmındaki DNA miktarı azalmaktadır. Işınlanmamış örnekler için yapılan mikroskop analizlerinde sağlam hücreler gözlenmiştir.

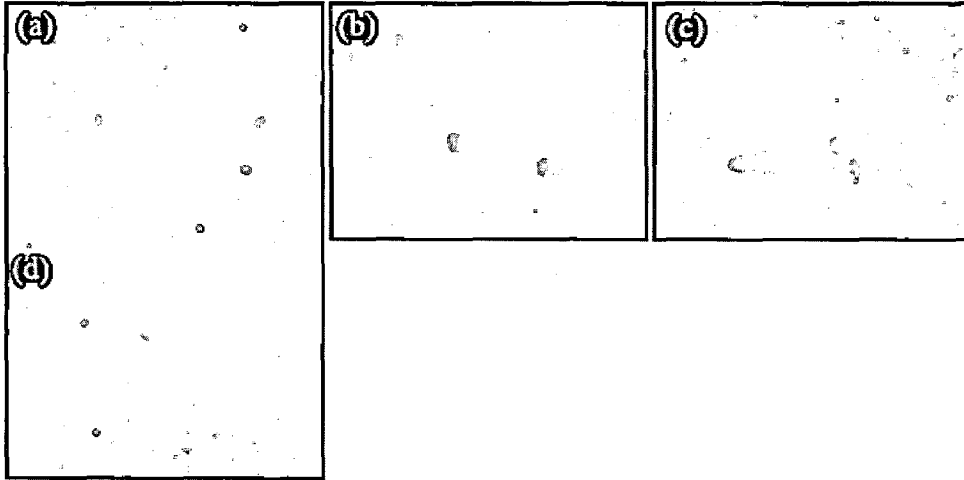
Işınlanmamış örneklerde bağlarda herhangi bir gerilme/esneme olmaması ve/veya DNA hasarı oluşmamasından dolayı ya hiç kuyruk oluşumu gözlenmemiş ya da çok kısa kuyruk oluşumu gözlenmiştir. 0.9 kGy veya daha fazla doz ile ışınlanmış örneklerde gözlenen uzun kuyruklu kometler bu örneklerde hücrenin hasar gördüğünü ve DNA parçalarının hücre dışına göçtüğünü göstermektedir. Ayrıca radyasyon dozuna bağlı olarak kuyruk uzunluğunun arttığı da gözlenmiştir. Kometin kuyruk kısmı baş kısmına göre daha geniş ve kalın görüntüde olduğu belirlenmiştir.

Buzdolabında depolama süresi arttıkça DNA göçmelerinin arttığı dondurulmuş biftek örnekleri, taze tavuk, domuz ve balık örnekleri ile [21] DNA Komet Analiz Yöntemi kullanılarak ispatlanmıştır. Bundan başka, buzdolabında depolanmış yaban domuzu ve sümbül gibi egzotik et türleri [22], domuz [23] ve kümes hayvanları [24] ile yapılan çalışmalardan başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Khan ve arkadaşları [13] DNA Komet Analiz Yöntemi'ni bazı taze ve dondurulmuş et ürünlerinde (kuzu eti, biftek ve hindi eti) ve yenilebilir deniz ürünlerinde uygulamışlardır.

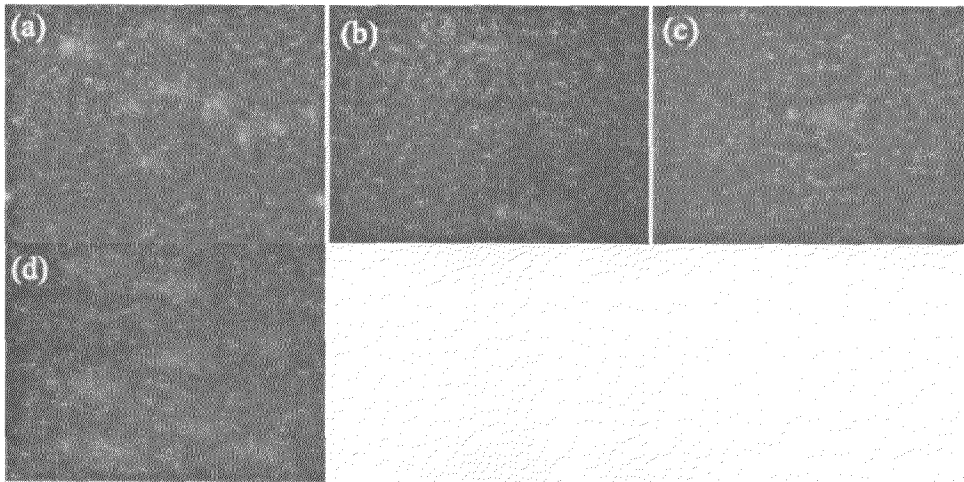
Buzdolabında depolanan taze bıldırcın örneklerinin raf ömrü bir kaç gündür. Bunların yenebilirlik özellikleri, havalı veya havasız ortamda yapılmış ambalajlama, sıcaklık ve ürünlerdeki bakteri türü ve miktarı gibi depolama koşullarına bağlıdır [25]. Düşük sıcaklıklarda (4 °C) bile bazı bakteriler yeniden çoğalabilmekte ve sonuç olarak gıdayı bozabilmektedirler [26]. Pek çok patojenik bakteri (*Örneğin; lysteria monocytogenes*) soğuk ortamlarda dahi yeniden çoğalabilmekte ve sağlığa zarar verebilmektedir [27]. İyonlaştırıcı radyasyon başlangıçtaki bakteri yükünün azaltılmasında kullanılabilir ve böylece ürünün raf ömrünün uzatılması sağlanabilir [26,28].

Çalışmada ışınlanmamış (kontrol) ve ışınlanmış örneklerin aynı zaman aralıkları (1, 4, 8 ve 11 gün) ile analizleri yapılmıştır. İlk gün yapılan analizlerde hücrelerin çoğunun ışınlanmamış (kontrol) örneklerine has çok kısa kuyruklu kometler (Marín-Huachaca ve arkadaşları tarafından Tip 1 olarak tanımlanan [14]) oluştururken (Şekil 1-3) bazı hücrelerin komet şekillerinden (*Örneğin; uzun kuyruklu*) değişik ölçülerde DNA

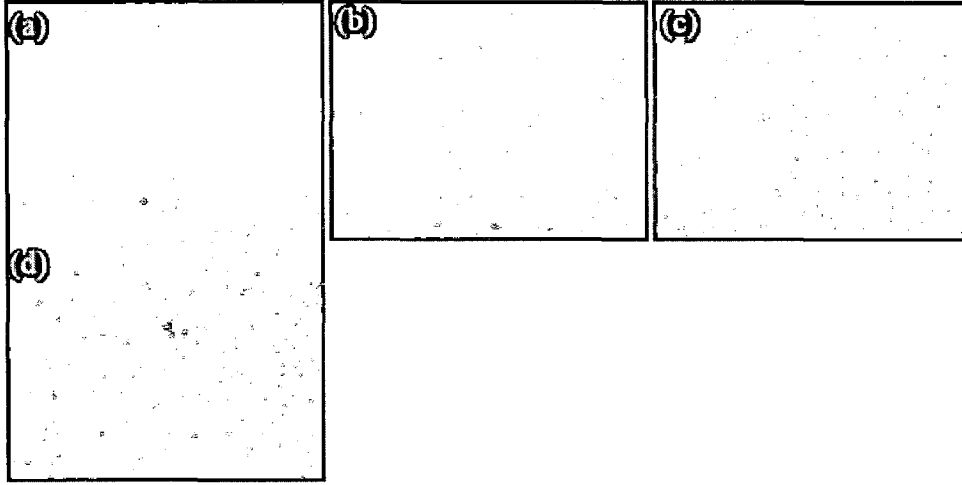
bozulması gösterdiği belirlenmiştir. İlk gün yapılan deneysel çalışmalarda ya çok az miktarda bakteri tespit edilmiş ya da hiç bakteriye rastlanmamıştır. Şekil 2a'da görüldüğü gibi 4. günde yapılan deneysel çalışmalarda uzun kuyruklu (Tip 2) kometler gözlenmiştir. İlk güne kıyasla 4. günde daha fazla DNA parçalanmasının meydana geldiği söylenebilir. Bu aşamada bütün örneklerde az sayıda bakteri olduğu tespit edilmiştir. Şekil 1-3. de buzdolabında 1, 4 ve 8 gün süre ile bekletilen örneklerde elde edilen uzun ve geniş kuyruklu kometler (Tip 3) nedeniyle DNA parçalanmasının ileri aşamalarda olduğu belirlenmiştir. Şekil 4. de görülen kometler 11 gün süre ile buzdolabında bekletilen bıldırcın örneklerine aittir.



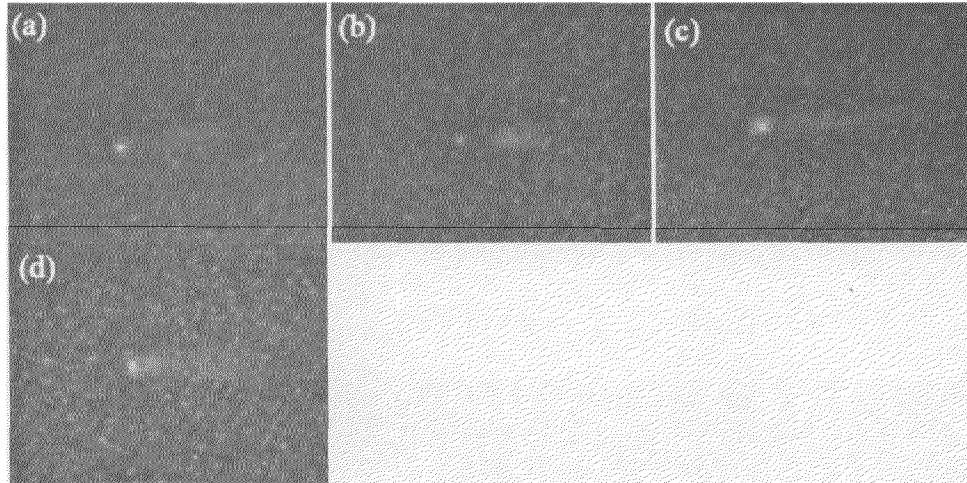
**Şekil 1.** Buzdolabında bir gün süre ile bekletilmiş bıldırcın örneklerinin DNA Komet Analiz deneylerinden elde edilen mikroskop fotoğrafları; propidyum iyodür boyama, mikroskop büyütme değeri 200. (a) ışınlanmamış, (b) ışınlanmış (0.9 kGy), (c) ışınlanmış (2.0 kGy), (d) ışınlanmış (4.0 kGy).



**Şekil 2.** Buzdolabında dört gün süre ile bekletilmiş bıldırcın örneklerinin DNA Komet Analiz deneylerinden elde edilen mikroskop fotoğrafları; propidyum iyodür boyama, mikroskop büyütme değeri 200. (a) ışınlanmamış, (b) ışınlanmış (0.9 kGy), (c) ışınlanmış (2.0 kGy), (d) ışınlanmış (4.0 kGy).



**Şekil 3.** Buzdolabında sekiz gün süre ile bekletilmiş bildirgin örneklerinin DNA Komet Analiz deneylerinden elde edilen mikroskop fotoğrafları; propidyum iyodür boyama, mikroskop büyütme değeri 200. (a) ışınlanmamış, (b) ışınlanmış (0.9 kGy), (c) ışınlanmış (2.0 kGy), (d) ışınlanmış (4.0 kGy).



**Şekil 4.** Buzdolabında onbir gün süre ile bekletilmiş bildirgin örneklerinin DNA Komet Analiz deneylerinden elde edilen mikroskop fotoğrafları; propidyum iyodür boyama, mikroskop büyütme değeri 200. (a) ışınlanmamış, (b) ışınlanmış (0.9 kGy), (c) ışınlanmış (2.0 kGy), (d) ışınlanmış (4.0 kGy).

İşinlama homojen kometler oluşturur [15,21,29,30]. Değişimler işinlamadan önce veya işinlamadan sonraki saklama koşullarını hakkında bilgi verir. İşinlamadan bir gün sonra hücreler işinlanmış hücelere ait tipik komet şekilleri verirler (bu kometler işinlanmamış kometlere göre 2 – 3 kat daha uzun kuyrukludurlar). Kometlerin şekilleri uygulanan işinlama dozu ile bağlantılıdır (Şekil 1–4). İşinlamadan 4 gün sonra 4 °C’da yapılan depolamadan dolayı DNA hasarında genel bir artış gözlenmiştir. Bütün işinlanmış örnekler (0.9, 2.0 ve 4.0 kGy) için ilk güne göre daha uzun ve geniş kometler elde edilmiştir. Bu aşamada bakteri popülasyonunda herhangi bir artış gözlenmemiştir. İşinlamadan 11 gün sonra ise bütün işinlanmış örnekler için (0.9, 2.0 ve 4.0 kGy) DNA parçalanmasının en yüksek olduğu ve bakteri popülasyonunun arttığı tespit edilmiştir (Şekil 1–4).

TS EN 13784'e göre uygulanan DNA Komet Analiz Yöntemi [19] bıldırcın numunelerinin ışınlanıp ışınlanmadıklarının tespit edilmesinde uygulanabilen hızlı bir eleme yöntemidir. Bu yöntem bıldırcın örneklerinin ışınlanıp ışınlanmadıklarının belirlenmesinin yanısıra örneklerdeki bakteri popülasyonu ile ilgili bilgi vermekte ve böylece analizi yapılan bir örneğin raf ömrü (tazeliği) hakkında genel bir fikir edinilebilmektedir.

Bu çalışmanın yapılmasını teknik ve maddi olarak sağlayan Türkiye Atom Enerjisi Kurumu (TAEK)'na teşekkür ediyoruz.

## 5. KAYNAKLAR

- [1] Diehl, J. F., Safety of irradiated foods, 2nd edn., Dekker, New York, 1995.
- [2] Molins, R., Food irradiation: principles and applications, Wiley, New York, 2001.
- [3] ICGFI, Clearance database, [www.iaea.org/icgfi](http://www.iaea.org/icgfi), 2001.
- [4] Anellis, A., Rowly, D. B., Ross, E. W. Jr., J Food Prot 42, 927-932, 1979.
- [5] Anellis, A., Shattuck, E., Morin, M., Srisara, B., Qvale, S., Rowly, D. B., Ross, E. W. Jr., Appl Environ Microbiol 34, 823-831, 1977.
- [6] Dubey, J. P., Brake, R. J., Murrell, K. D., Fayer, R., Am Vet Res 47, 518-522, 1986.
- [7] FDA, Irradiation in the production, processing and handling of food, Final Rule, Federal Register 62 (232), 64107-64121 (03.12.1997), 1997.
- [8] FSIS, Irradiation of Meat Food Products; Final Rule, Federal Register 64 (246), 72147-72166 (23.12.1999), 1999.
- [9] Brito, M.S., Villavicencio, A.L.C.H., Mancini-Filho, J., Effects of irradiation on trans fatty acids formation in ground beef, Radiat. Phys. Chem. 63 (3-6), 337-340, 2002.
- [10] Nutsch, A.L., Phebus, R.K., Riemann, M.J., Schafer, D.E., Boyer, J.E., Wilson, R.C., Leising, J.D., Kastner, C.L., Evaluation of a steam pasteurization process in a commercial beef processing facility, J Food Prot 60, 485-492, 1997.
- [11] WHO, High-dose irradiation: wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy, 1999.
- [12] Delincée, H., Detection of food treated with ionizing radiation, Trends in Food Science & Technology 9, 73-82, 1998.
- [13] Khan, A.A., Khan, H.M., Delincée, H., DNA comet assay – a validity assessment for the identification of radiation treatment of meats and seafood, Eur Food Res Technol 216, 88-92, 2003.
- [14] Marín-Huachaca, N., Delincée, H., Mancini-Filho, J., Villavicencio, A.L.C.H., Use of the DNA Comet Assay to detect beef meat treated by ionizing radiation, Meat Science 71, 446-450, 2005.
- [15] Cerda, H., Delincée, H., Haine, H., Rupp, H., The DNA 'comet assay' as a rapid screening technique to control irradiated food, Mutation Research 375, 167-181, 1997.
- [16] Delincée, H., Rapid detection of irradiated frozen hamburgers, Radiat. Phys. Chem. 63, 443-446, 2002.
- [17] García, O., Romero, I., González, J.E., Mandia, T., Measurement of DNA damage on silver stained comets using free internet software, Mutation Research 627, 186-190, 2007.
- [18] Delincée, H., Silver staining of DNA in the 'Comet Assay', Comet Newsletter, July 1995.
- [19] TS EN 13784 – Gıda Maddeleri – Işınlanmış Gıda Maddelerinin Belirlenmesi İçin DNA Komet Deneyi-Eleme Yöntemi Standardı, TSE (Türk Standardları Enstitüsü), Aralık 2004.
- [20] CEN, EN 13784 Foodstuffs – DNA Comet Assay for the detection of irradiated foodstuffs – screening method, European Committee for Standardization, Brussels, 2001.
- [21] Cerda, H., Detection of Irradiated Fresh Chicken, Pork and Fish using DNA Comet Assay, Lebensm.-Wiss. U.-Technol. 31, 89-92, 1998.
- [22] Villavicencio, A.L.C.H., Mancini-Filho, J., & Delincée, H., Application of a rapid screening method to detect irradiated meat in Brazil, Radiat. Phys. Chem. 57, 295-298, 2000.
- [23] Araújo, M.M., Marín-Huachaca, N.S., Mancini-Filho, J., Delincée, H., & Villavicencio, A.L.C.H., Identification of irradiated refrigerated pork with the DNA comet assay, Radiat. Phys. Chem. 71, 183-185, 2004.
- [24] Villavicencio, A.L.C.H., Araújo, M.M., Marín-Huachaca, N.S., Mancini-Filho, J., & Delincée, H., Identification of irradiated refrigerated poultry with the DNA comet assay, Radiat. Phys. Chem. 71, 187-189, 2004.
- [25] Cerda, H., Detection of irradiated frozen food with the DNA Comet Assay, Interlaboratory Test, Journal of the Science of Food and Agriculture 76, 435-442, 1998.

- 
- [26] Lambert, A.D., Smith, J.P., Dodds, K.L., Shelf life extension and microbiological safety of fresh meat – a review, *Food Microbiology* 8, 267-297, 1991.
- [27] Brackett, R.E., Microbiological safety of chilled foods: current issues, *Trends in Food Science & Technology*, 3, 81- 85, 1992.
- [28] Jay, J.M., *Modern Food Microbiology*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1992.
- [29] Cerda, H., Von Hofsten, B., Johanson, K.J., Identification of irradiated food by microelectrophoresis of DNA from single cells. In: Leonardi, M., Belliardo, J.J., Raffi, J.J. (Eds)In: *Recent Advances of New Methods of Detection of Irradiated Food. Proceedings of the Workshop, Luxembourg: Commission of the European Communities*, pp. 401-405. EUR-14315 (Ancona, 24-26 Sept. 1991), 1993.
- [30] Koppen, G., Cerda, H., Identification of low-dose irradiated seeds using the neutral comet assay, *Food Sci. Technol.* 30, 452-457, 1997.